

利用功能标记鉴定普通野生稻中的白叶枯病抗性基因

夏志辉^{1,2, #} 韩飞^{1, #} 高利芬² 袁潜华¹ 翟文学² 刘迪³ 罗越华^{1, *}

(¹海南大学农学院, 海南海口 570228; ²中国科学院遗传与发育生物学研究所, 北京 100101; ³海南省农业科学院粮食作物研究所, 海南海口 571100; # 共同第一作者; * 通讯联系人, E-mail: lyhkh@163.com)

Application of Functional Marker to Identify Genes for Bacterial Blight Resistance in *Oryza rufipogon*

XIA Zhi-hui^{1,2, #}, HAN Fei^{1, #}, GAO Li-fen², YUAN Qian-hua¹, ZHAI Wen-xue², LIU Di³, LUO Yue-hua^{1, *}

(¹College of Agriculture, Hainan University, Haikou 570228, China; ²Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; ³Institute of Food Crops, Hainan Academy of Agricultural Sciences, Haikou 571100, China; # These authors contributed equally to this paper; * Corresponding author, E-mail: lyhkh@163.com)

Abstract: Field resistance of nine accessions of common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) and a highly susceptible variety IR24 was evaluated with nine strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* from the Philippines. The result showed that IR24 was highly susceptible to all of the strains and six common wild rice materials resisted total nine strains, accounting for 67% of the total. Two materials from Yulin, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Wanning, Hainan Province were susceptible to the strains PXO280 and PXO71, respectively, and a material from Gaozhou, Guangdong Province was susceptible to the strains PXO79, PXO99 and PXO339, but they were resistant to the other strains. It is concluded that there was at least one resistance gene in every material. PCR detection for the presence of cloned resistance genes with the functional markers for *xa5*, *xa13*, *Xa21* and *Xa27* revealed that there were no *xa5* and *Xa21* in all of these materials. Four materials contained recessive resistance gene *xa13*, which were all heterozygous. There were five homozygotes with dominant resistance gene *Xa27* and three homozygotes harboring the recessive gene *xa27* and one material with neither *xa27* nor *Xa27*.

Key words: *Oryza rufipogon*; bacterial blight; resistance gene; functional marker

摘要:以9个菲律宾白叶枯病菌小种对供试的9份普通野生稻(*Oryza rufipogon* Griff.)及1份高感白叶枯病材料IR24进行抗性鉴定,发现IR24对所有的菌株都表现为高感,6份野生稻材料对9个菌株表现全抗,占参试野生稻总数的67%。取自广西玉林的1份材料只感PXO280(P8),海南万宁的1份材料感PXO71(P4),广州高州的1份材料对PXO79、PXO99和PXO339感病,而这几份材料对其余菌株都表现为抗病,说明每份材料至少含有1个抗性基因。利用已克隆的白叶枯病抗性基因 $xa5$ 、 $xa13$ 、 $Xa21$ 和 $Xa27$ 的功能标记检测,结果表明9份供试普通野生稻中都不含抗性基因 $xa5$ 、 $Xa21$;5份为显性 $Xa13$ 纯合体,4份为隐性抗病 $xa13$ 杂合体;5份为抗病显性 $Xa27$ 纯合体,3份为隐性 $xa27$ 纯合体,1份材料中 $xa27$ 和 $Xa27$ 都不存在。

关键词:普通野生稻;白叶枯病;抗性基因;功能标记

中图分类号: Q943.2; S435.111.4+7; S511.034

文献标识码: A

文章编号: 1001-7216(2009)06-0653-04

在水稻的生长过程中,经常受到各种病虫害的危害,其中,白叶枯病是水稻的三大病害之一。防治水稻病害最经济有效的方法是培育抗病品种,而抗性基因的发掘和克隆是培育抗病品种的基础,因此,对水稻白叶枯病抗性基因的研究一直是水稻白叶枯病研究的重点。目前在不同的水稻资源中已鉴定出31个白叶枯病抗性基因^[1-3],已经定位的有19个,在已克隆的6个基因中有4个显性基因 $Xa1$ ^[4]、 $Xa3$ / $Xa26$ ($Xa3$ 与 $Xa26$ 是同一个基因)^[5-7]、 $Xa21$ ^[8]、 $Xa27$ ^[9]和2个隐性基因 $xa5$ ^[10]、 $xa13$ ^[1, 11]。

普通野生稻中含有丰富的白叶枯病抗性基因,来源于野生稻的抗性基因迄今报道的至少有5个,分别是 $Xa21$ ^[8]、 $Xa23$ ^[12-13]、 $Xa27$ ^[14]、 $Xa29$ (t)^[15]、 $Xa30$ (t)^[3]和一个可能的尚未命名的新基因^[16]。很多普通野生稻对白叶枯病高抗甚至免疫,然而这些高抗的野生稻在田间对白叶枯病的抗性、抗谱如何及抗性是由上述已克隆的基因还是其他的新基因赋予,目前还未见综合报道。因此,本研究通过田间接菌鉴定和利用已知抗病基因抗、感表型变化的多态性序列开发

出来的标记,即功能标记,对9份来自我国不同地域的普通野生稻材料进行研究,希望明确供试普通野生稻材料中的已知抗病基因,为采用功能标记利用已知抗病基因提供技术支持及发掘新的抗病基因打下基础。

1 材料与方法

1.1 水稻材料

9份普通野生稻材料由海南大学农学院袁潜华研究员提供(以采集地命名),种植在该学院种质资源圃。普通野生稻材料分别采自广西(3份)、云南(1份)、江西(1份)、广东(1

收稿日期: 2009-01-13; **修改稿收到日期:** 2009-03-23。

基金项目: 海南省重点学科建设资助项目; 国家863计划资助项目(2006AA10Z1C8); 中国科学院知识创新工程资助项目(KSCX-YW-N-009-02, KSCX1-YW-03); 国家973计划前期研究专项资助项目(2009CB126004); 海南省自然科学基金资助项目(309019)。

第一作者简介: 夏志辉(1978-),男,助理研究员,博士研究生; 韩飞(1984-),男,博士研究生。

份)和海南(3份)。供试材料还包括高感白叶枯病品种 IR24 和含有已知单个抗性基因的供体材料 IRBB5(*xa5*)、IRBB13(*xa13*)、IRBB21(*Xa21*)、CBB23(*Xa23*)、IRBB27(*Xa27*)。为避免野生稻单株间可能存在的遗传差异,每个来源地的材料取最抗病10个单株(每株等量)的叶片研磨混匀后提取DNA作为PCR模板。

1.2 水稻白叶枯病菌株和接种

9个供试菌株都是来源于菲律宾的背景明确、高度纯化的白叶枯病鉴别小种 PXO61(P1)、PXO86(P2)、PXO79(P3)、PXO71(P4)、PXO112(P5)、PXO99(P6)、PXO280(P8)、PXO339(P9)和 PXO124(P10)。通过剪叶法对充分伸展的叶片接种白叶枯病菌。接种病原菌在PSA培养基上于28℃下培养72h,调节菌液浓度至 1×10^9 cfu/mL,每个菌株接种3株处于相同生长发育阶段的植株,每株至少接种3片叶片。接种15d左右当病斑明显而稳定时进行调查。将病斑长度与叶片总长度百分比平均值,即病斑面积比作为抗性指标对其抗病情况进行分析,百分比小于20%为抗病,超过20%则为感病。

1.3 抗性基因功能标记的设计与扩增

本研究中利用的各抗性基因功能标记引物序列及在抗、感材料中的预期扩增产物大小见表1。Jiang等^[10]研究表明,*xa5*感、抗原因是由于编码区由碱基TC突变成AG造成的,在此基础上设计了dCAPS标记(derived cleaved amplified polymorphic sequences)。为了更好地区分抗、感基因带型,将靠近突变位点的引物长度由Jiang等设计的20bp增加至25bp。*xa13*功能标记利用Chu等^[1]报道的*xa13*基因启动子区的差异设计,*Xa21*利用Song等^[8]发表引物序列。Gu等^[17]通过比较IR24与IRBB27基因组序列发现,在感病材料IR24的*xa27*基因的TATA盒上游-43bp处多了1个25bp的重复,由此设计成*Xa27*的功能标记。虽然*Xa26*/*Xa3*、*Xa1*基因已经克隆,但引起抗、感表型变化的多态性位点仍没有确定,无法设计其功能标记,故本研究没有对这两个基因进行鉴定。

*xa5*标记PCR产物用*Xho*I酶切,酶切体系为10μL PCR产物,2μL 10×对应酶切缓冲液,1U内切酶消化5h,3%琼脂糖凝胶电泳检测。

为了保证结果的可靠性和最终电泳图的美观,每次PCR反应后,先取5μL产物电泳检测,将电泳条带不够亮或没有的材料再次进行PCR,确定不能扩增的原因不是操作或PCR体系等因素导致而是供试材料遗传背景差异造成,然后把扩增产物集中电泳,照相保存。

表1 本研究中利用的PCR分子标记

Table 1. PCR-based molecular markers developed in this study.

功能标记 Functional marker	正向引物 Forward primer (5'→3')	反向引物 Reverse primer (5'→3')	在抗、感材料中产物的预期大小 Approximate product size/bp	
			抗病 Resistant	感病 Susceptible
			<i>xa13</i>	AGCTCCAGCTCTCCAAATG
<i>xa5</i> / <i>Xho</i> I	CCGAGCTCGCCATTCAAGTTCTCG	TGCTCTTGACTTGGTTCTCC	145	170
<i>Xa21</i>	CGATCGGTATAACAGCAAAAC	ATAGCAACTGATTGCTTGG	1400	1300
<i>Xa27</i>	TAGTGTCTAAATACAGGGACT	GAGTACTTTGCTCTGATGCTC	149	174

2 结果与分析

2.1 普通野生稻对白叶枯病菌的抗性

根据抗性反应的鉴别标准,9份普通野生稻材料对来自菲律宾的水稻白叶枯病菌的9个小种抗性反应如表2所示。感病品种IR24对所有病原菌小种的病斑面积比都超过30%,说明这些病原菌小种都具有致病力。取自广西来宾、广西桂平、云南昆明、江西东乡、海南琼海、海南东方共6份普通野生稻材料对9个菌株的病斑面积比都少于20%,表现为抗病,占9份普通野生稻材料的67%;取自广西玉林的1份普通野生稻材料只对PXO280感病,病斑面积比为36.9%±17.2%,对其他8个菌株表现为高抗,病斑面积比都小于5%;取自海南万宁的普通野生稻材料对PXO71感病,病斑面积比为99.7%±0.6%,对另外8个供试菌株都表现为抗病,病斑面积比最大不超过7.7%±4.8%;广州高州1份野生稻对PXO79、PXO99、PXO339感病,对其他6个菌株都表现为抗病。总之,9份供试野生稻材料抗多数白叶枯病原菌小种,没有一份全感,说明普通野生稻对白叶枯病具有广泛的抗性且这些材料中至少含有一个抗性基因;不同来源地的普通野生稻对个别病原菌小种存在抗性差异,说明来源地不同的材料可能携有不同的抗性基因。

野生稻单株往往是遗传杂合体,个体之间也存在遗传背景差异。本研究以标准差的大小作为考查指标,评估接种同一种菌的3株野生稻个体抗病能力的差异。标准差大,说明3株间的个体病斑长度的差异大,则抗病能力差异大,从而说明该材料个体的杂合程度高,反之亦然。从表2可以看出感病对照IR24的标准差为1.9%~9.0%,野生稻对各个菌株抗性反应——病斑面积比标准差有超过9.0%的。广西玉林野生稻对PXO280菌株的抗性反应标准差达17.2%,说明接种PXO280菌株的3株野生稻抗性存在较大差异,3株中最感病的叶片病斑面积比为52.2%,最抗病的只有0.9%,差异非常大。在其他对个别菌株抗性反应标准差超过9.0%的野生稻材料中,广东高州野生稻对PXO79、PXO71、PXO99、PXO339,海南东方野生稻对PXO86、PXO99的标准差都超过9.0%,说明这两份材料的杂合程度非常高,尤其是广东高州野生稻。其他来源地的野生稻对个别菌株的病斑面积比标准差都低于9.0%,大都在4.0%以下,说明各个单株间抗病能力差异小。

2.2 功能标记检测

如果能明确供试普通野生稻材料中的已知抗病基因,可以为新抗病基因的发掘或已知抗病基因的利用提供理论依

表 2 普通野生稻对白叶枯病菌 9 个菌株的抗性反应

Table 2. Reaction of *O. rufipogon* to nine strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*.

小种 Strain	IR24	普通野生稻(来源地) <i>O. rufipogon</i> (Origin)								
		广西来宾	广西桂平	广西玉林	云南昆明	江西东乡	广东高州	海南琼海	海南东方	海南万宁
		Laibin, Guangxi	Guiping, Guangxi	Yulin, Guangxi	Kunming, Yunnan	Dongxiang, Jiangxi	Gaozhou, Guangdong	Qionghai, Hainan	Dongfang, Hainan	Wanning, Hainan
P1	S(38.6±2.6)	R(5.5±5.1)	R(1.0±0.4)	R(1.4±0.9)	R(2.7±1.9)	R(3.3±2.6)	R(7.9±8.6)	R(0.3±0.2)	R(1.0±0.6)	R(0.8±0.3)
P2	S(54.4±1.9)	R(3.3±1.7)	R(6.6±1.9)	R(3.5±4.0)	R(8.0±5.4)	R(3.7±2.3)	R(10.0±3.0)	R(4.6±3.5)	R(12.9±10.0)	R(3.1±2.3)
P3	S(56.0±4.5)	R(4.0±2.0)	R(4.1±4.0)	R(1.6±1.1)	R(5.1±3.2)	R(1.5±1.1)	S(36.1±12.3)	R(5.8±0.7)	R(13.7±5.6)	R(1.6±1.4)
P4	S(39.3±3.1)	R(3.5±4.0)	R(2.3±3.0)	R(3.6±1.8)	R(7.4±2.4)	R(5.0±2.5)	R(19.4±12.3)	R(1.8±1.1)	R(9.6±6.3)	S(99.7±0.6)
P5	S(31.9±2.2)	R(4.2±1.9)	R(5.2±3.6)	R(2.3±2.3)	R(3.5±3.1)	R(4.4±1.7)	R(1.8±0.6)	R(1.2±0.4)	R(7.8±1.4)	R(7.7±4.8)
P6	S(69.9±6.3)	R(2.9±2.0)	R(2.2±1.7)	R(2.1±1.4)	R(9.0±2.5)	R(3.5±2.4)	S(65.2±13.4)	R(1.8±1.1)	R(18.4±15.6)	R(2.9±1.3)
P8	S(71.2±9.0)	R(5.9±7.0)	R(3.6±4.4)	S(36.9±17.2)	R(2.0±1.7)	R(6.1±4.1)	R(7.9±7.2)	R(1.0±1.0)	R(4.6±3.1)	R(2.3±0.8)
P9	S(37.0±2.6)	R(4.2±1.5)	R(1.2±1.1)	R(0.6±0.3)	R(0.8±0.8)	R(2.6±1.2)	S(51.5±23.2)	R(1.2±0.8)	R(9.9±2.4)	R(0.7±0.2)
P10	S(61.0±4.4)	R(1.3±0.5)	R(0.7±0.4)	R(0.6±0.3)	R(1.0±1.1)	R(0.6±0.2)	R(0.9±0.4)	R(0.7±0.4)	R(0.3±0.1)	R(1.6±1.9)

普通野生稻材料以该材料来源地的城市名命名。R—抗病；S—感病。括号中数据为病斑面积比±标准差。

The common wild rice materials are named after the cities where the materials were acquired. R, Resistant; S, Susceptible. Data in parentheses are ratio of lesion area to total leaf area±standard deviation.

Strains; P1, PXO61; P2, PXO86; P3, PXO79; P4, PXO71; P5, PXO112; P6, PXO99; P8, PXO280, P9, PXO339; P10, PXO124.

据。因此,本研究利用已克隆的白叶枯病抗性基因 *xa5*、*xa13*、*Xa21*、*Xa27* 的功能标记对 9 份材料的 DNA 进行分析。结果表明(图 1),9 份普通野生稻材料的 *xa5*、*Xa21* 功能标记扩增带型中没有对应的单基因供体材料 IRBB5、IRBB21 的条带,而与高感白叶枯病材料 IR24 完全一致,说明这些供试普通野生稻材料中都没有抗病基因 *xa5*、*Xa21* (图 1-A、C);*xa13* 功能标记检测发现,所有材料都能扩增出 IR24 的条带,说明存在与 *xa13* 等位的显性基因 *Xa13*,其中来源于广西桂平、云南昆明等地的 4 份材料还能扩增出隐性抗病基因

xa13 带型(图 1-B),由于 *Xa13* 的存在,供试野生稻的白叶枯病抗性不可能是 *xa13* 赋予的;此外 *xa13* 的扩增产物条带明显比 *Xa13* 扩增产物条带弱,特别是来自云南昆明的材料扩增产物尤其模糊,造成这个现象的原因可能是竞争 PCR 的结果,即在同一反应体系中,*Xa13* 更容易获得扩增;*Xa27* 功能标记扩增结果显示,来源于广西桂平、广东高州等地的 3 份材料扩增带型与 IR24 完全一致,即 *xa27* 纯合体,来源于广西来宾的材料没有任何扩增产物,重复两次结果都是如此,说明这份材料既不含 *xa27* 也不含 *Xa27*;来源于广西玉林、江西东乡、海南琼海等地的 5 份材料的扩增带型与 IRBB27 完全一致,即为抗病 *xa27* 纯合体(图 1-D)。Amante-Bordeos 等^[14] 研究表明 *xa27* 只高抗菲律宾小种 P2、P3、P5 和 P6,本实验能扩增出 *xa27* 带型的材料不仅高抗这 4 个小种,还对其他小种具有高度抗性,揭示这 5 份材料除 *xa27* 外还携有其他的抗性基因。

为了验证上述能扩增出 *xa27* 基因的 5 份材料的 PCR 片段是否与 IRBB27 一致,本研究对所有能扩增 *xa27* 基因的 PCR 片段都单独回收测序,测序结果表明,5 份材料序列与 IRBB27 的序列完全一致,说明功能标记可以用来检测遗传背景未知材料中的已知基因(数据未显示)。由于在野生稻中能扩增出的 *xa13* 基因产物非常少,不便于回收,故未测序。

3 讨论

来源于野生稻的白叶枯病抗性基因 *Xa21*、*xa27* 已经克隆,*Xa23*、*Xa29*(t) 和 *Xa30*(t) 还未见克隆的报道,故本研究没有对 *Xa23*、*Xa29*(t) 和 *Xa30*(t) 进行检测。白叶枯病菌株在鉴定抗性基因方面发挥了很大的作用,但单纯地利用白叶枯病菌株鉴定抗性基因也存在明显局限性,因为通过接菌鉴定白枯病抗性基因不仅需要多个不同类型的生理小种,还需要一套含有单一抗性基因的对照材料作比较,普通实验室不可能拥有完善的鉴别菌株和全套的单一基因的抗性材料;野生稻对白叶枯病的抗性还会受环境因素如温度、湿度的影响。为了确保不同地域的普通野生稻对白叶枯病原菌的

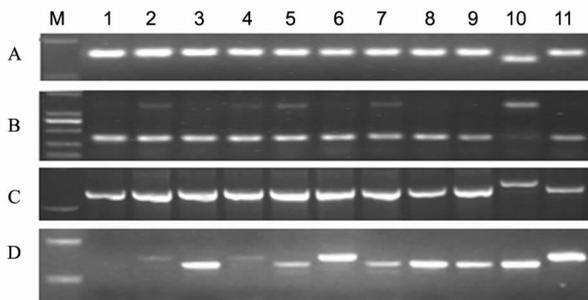


图 1 利用功能标记对普通野生稻材料的抗性基因进行 PCR 分析

Fig.1. PCR analysis of resistance genes in *O. rufipogon* with functional markers.

A—*xa5* 功能标记 *xa5*/*Xho* I; B—*xa13* 功能标记; C—*Xa21* 功能标记; D—*xa27* 功能标记。

M—DL2000 marker; 1—广西来宾; 2—广西桂平; 3—广西玉林; 4—云南昆明; 5—江西东乡; 6—广州高州; 7—海南琼海; 8—海南东方; 9—海南万宁; 10—对应抗性基因供体材料 IRBB5、IRBB13、IRBB21、IRBB27; 11—IR24。

A, *xa5* functional marker *xa5*/*Xho* I; B, *xa13* functional marker; C, *Xa21* functional marker; D, *xa27* functional marker.

M, DL2000 marker; 1, Laibin, Guangxi; 2, Guiping, Guangxi; 3, Yulin, Guangxi; 4, Kunming, Yunnan; 5, Dongxiang, Jiangxi; 6, Gaozhou, Guangdong; 7, Qionghai, Hainan; 8, Dongfang, Hainan; 9, Wanning, Hainan; 10, The corresponding resistance gene donor parents IRBB5, IRBB13, IRBB21 and IRBB27 (A to D), respectively; 11, IR24.

抗性数据的可靠性,需要将供试材料集中种植,同一时间接种、统计。此外,由于野生稻单株往往存在遗传差异,会导致个体间抗性存在较大差异,因此,需要通过接种较多植株,统计较多叶片才会得到更准确的抗性数据,但由于种质圃中野生稻材料数量的局限,在接种多个菌株的情况下,在小面积的种质圃中很难找到足够数量的处于同一生长状态、发育时期的适合接种的叶片。功能标记鉴定抗性基因不会受野生稻生长状态、环境的影响,可以较方便地鉴定出抗性基因。不过,由于野生稻单株也可能存在差异,为了让检测的样品更具有代表性,待检测样品模板最好取自多个植株的等量叶片磨匀后混合物所提DNA。此外,由于本研究所用功能标记都是基于PCR技术上的分子标记,PCR过程中可能会产生与抗性基因预期产物大小一致,片段序列与抗性基因完全不同的PCR片段,因此,还应把与抗性基因产物大小一致的片段回收测序验证,以确保结论可靠。

谢辞:中国农业科学院作物科学研究所周永力副研究员提供白叶枯病菌鉴别菌株,在此深表谢意。

参考文献:

- [1] Chu Z H, Yuan M, Yao J L, et al. Promoter mutations of an essential gene for pollen development result in disease resistance in rice. *Genes Dev*, 2006, 20(10): 1250-1255.
- [2] 章琦. 水稻白叶枯病抗性基因鉴定进展及其利用. *中国水稻科学*, 2005, 19(5): 453-459.
- [3] 金旭炜, 王春连, 杨清, 等. 水稻抗白叶枯病近等基因系CBB30的培育及Xa30(t)的初步定位. *中国农业科学*, 2007, 40(6): 1094-1100.
- [4] Yoshimura S, Yamanouchi U, Katayose Y, et al. Expression of Xa1, a bacterial blight-resistance gene in rice, is induced by bacterial inoculation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(4): 1663-1668.
- [5] Xiang Y, Cao Y L, Xu C G, et al. Xa3, conferring resistance for rice bacterial blight and encoding a receptor kinase-like protein, is the same as Xa26. *Theor Appl Genet*, 2006, 113(7): 1347-1355.
- [6] Sun X L, Cao Y L, Yang Z F, et al. Xa26, a gene conferring resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice, encodes an LRR receptor kinase-like protein. *Plant J*, 2004, 37(4): 517-527.
- [7] Cao Y L, Duan L, Li H J, et al. Functional analysis of Xa3/Xa26 family members in rice resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Theor Appl Genet*, 2007, 115(7): 887-895.
- [8] Song W Y, Wang G L, Chen L L, et al. A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene, Xa21. *Science*, 1995, 270(5243): 1804-1806.
- [9] Wu L F, Goh M L, Sreekala C, et al. XA27 depends on an amino-terminal signal-anchor-like sequence to localize to the apoplast for resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Plant Physiol*, 2008, 148(3): 1497-1509.
- [10] Jiang G H, Xia Z H, Zhou Y L, et al. Testifying the rice bacterial blight resistance gene xa5 by genetic complementation and further analyzing xa5 (Xa5) in comparison with its homolog TFII1γ1. *Mol Genet Gen*, 2006, 275(4): 354-366.
- [11] Chu Z H, Fu B Y, Yang H, et al. Targeting xa13, a recessive gene for bacterial blight resistance in rice. *Theor Appl Genet*, 2006, 112(3): 455-461.
- [12] 章琦. 普通野生稻抗白叶枯病新基因被正式命名为 Xa23. *作物杂志*, 2003(1): 20.
- [13] 李进波, 王春莲, 夏明元, 等. 分子标记辅助选择 Xa23 基因培育杂交稻抗白叶枯病恢复系. *作物学报*, 2006, 32(10): 1423-1429.
- [14] Amante-Bordeos A, Sitch L A, Nelson R, et al. Transfer of bacterial blight and blast resistance from the tetraploid wild rice *Oryza minuta* to cultivated rice, *Oryza sativa*. *Theor Appl Genet*, 1992, 84(3): 345-354.
- [15] 谭光轩, 任翔, 翁清妹, 等. 药用野生稻转育后代一个抗白叶枯病新基因的定位. *遗传学报*, 2004, 31(7): 724-729.
- [16] 黄佳男, 王长春, 胡海涛, 等. 疣粒野生稻抗白叶枯病新基因的初步鉴定. *中国水稻科学*, 2008, 22(1): 33-37.
- [17] Gu K Y, Yang B, Tian D S, et al. R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. *Nature*, 2005, 435(7045): 1122-1125.
- [18] Gu K, Tian D, Yang F, et al. High-resolution genetic mapping of Xa27(t), a new bacterial blight resistance gene in rice, *Oryza sativa* L. *Theor Appl Genet*, 2004, 108(5): 800-807.